藥用植物類黃酮簡介

羅惠齡、劉新裕
行政院農業委員會農業試驗所

一、前言

近年來自由基對細胞的傷害已被醫學界認定，顯示自由基與人類許多疾病的發展有關，包括人體老化、心血管疾病或癌症等(11)。生物體內若受到新陳代謝影響，會產生自由基(free radical)，自由基是人體代謝產物之一，本身是一種不成對的電子，處於一種不穩定的狀態，這些自由基在人體內會攻擊細胞的蛋白質、核酸和脂質等，造成細胞組織的損傷。氧爲大多數生物所必須，而細胞內多種氧化反應及新陳代謝途徑會產生活性氧之自由基，活性氧與自由基的形成可能經由生物性或環境性過程而產生，並引起連鎖反應而形成更多的自由基。環境中自由基的主要來源，包括化學物質、離子輻射、空氣污染、抽菸等。而生物體內的自由基是在細胞進行代謝時的氧化還原反應所產生，例如在電子轉移過程中，會產生超氧陰離子、氫氧自由基與過氧化氫等中間物；或是有外來物入侵時產生超氧陰離子，以抵抗外來物所引起的干擾(17)。因此自由基在人體中提供了調節細胞間訊息和細胞生長等多種生物功能，但是當自由基的生成超過細胞內抗氧化機制的防禦能力時，就會造成氧化壓力(oxidative stress)。氧化壓力是指抗氧化系統與氧化傷害無法達到平衡，而對生物體造成傷害的現象，最後可能會引起 DNA、蛋白質與脂質的氧化傷害。一般生物抗氧化機制包括酵素及非酵素兩大類，一爲非酵素之抗氧化物：如類黃酮 (flavonoids)、多元酚(polyphenols)、單寧(tannin)、麩胱甘月太(glutathione)、抗壞血酸 (ascorbate)、α－生育醇 (α－tocopherol)、生物鹼(alkaloids)、葉綠素(chlorophyll)、氨基酸(amino acid)、類胡蘿蔔素(carotenoids)、多醣體(polysaccharides)及礦物元素 (minerals)等；另一爲酵素系統，如超氧歧化酶(superoxide dismutase)、觸酶(catalase)、穀胱甘肽還原酶(glutathione reductase)、過氧化酶(peroxidase)等。隨著年齡的增長，生物體產生抗氧化物質和抗氧化酵素等自身防禦能力會逐漸下降，因此爲了鞏固生物體之抗氧化防禦系統，有必要找尋一些具有抗氧化活性的天然食物，以作爲調整機體之抗氧化防禦能力。而近年來許多研究顯示，來自植物穀豆類、種籽類、各式蔬果及茶葉所含天然性非營養素及營養素成分，統稱爲植物類化學物質，(Phytochemicals)此類物質具有抗氧化、抑制癌症、降低血脂質及預防心血管疾病等功效，其中更以具有苯環及雙鍵結構的類黃酮(flavonoids)，具有超強的抗氧化特性(17)。

二、類黃酮的種類

類黃酮廣泛分布於植物界，屬於多酚類化合物的一種，爲植物的二次代謝產物，類黃酮與醣類結合形成配醣體或醣之型式，廣泛存在於植物組織中，特別是葉、花、種子、果實。其主要化學結構爲A、C二個環上再接上一個酚基的B環爲基礎的一群衍生物，是一種 C_6–C_3–C_6的骨架，B環結構上C-3、C-4有鄰位雙羥基結構，對過渡金屬離子Cu^{2+}、Fe^{2+}具有螯合作用，可間接抑制脂質過氧化反應之發生。C環上若C-4有酮基存在及A、C環上C-2、C-5爲羥基，會形成分子內的氫鍵，對自由基有很強清除能力，同時也會使類黃酮具有金屬螯合的效果(5)。類黃酮其雜環上因取代基之不同而衍生出超過4000多種不同結構，依結構差異性可分爲八大類：(1) 黃酮(flavones)、(2) 黃酮醇(flavonols)、(3) 黃烷酮(flavanones)、(4) 異黃酮(isoflavones)、(5) 黃烷醇(flavanols)、(6) 黃烷酮醇(flavanonols)、(7) 查酮(chalcone)及(8) 花青素配基(anthocyanidins) (17)。經由許多試驗證實類黃酮具有顯著生理藥理活性，包括有抗癌防癌作用；對心血管、心肌有益作用；影響內分泌系統作用；可降低血糖；具激素樣作用，影響骨組織作用；影響免疫系統；護肝、抗炎、抗過敏作用；抗菌、抗病毒、抗氧化及清除自由基作用等(9)。

三、類黃酮的提取分析方法

（一）目前常用的類黃酮提取方法有下列幾種：

(1)超聲波提取法

超聲波在媒質中傳播可使媒質質點在其傳播空間內進入振動狀態強化溶質擴散、傳遞。當大能量的超聲波作用於提取介質，在振動於稀疏狀態時，介質被撕裂成許多小空穴，空化中產生極大壓力造成被破碎物細胞壁及整個生物體破裂，而且整個破裂過程瞬間完成，同時超聲波產生振動作用加強細胞內物質釋放、擴散及溶解生物活性不減，提高破碎速度及提取效率，可極大地提高萃取效率[19]。

(2)聚醯胺樹脂柱分離法

利用相似相溶的原理，在有機溶劑回流提取下，使在有機溶劑中溶解度較大的類黃酮從植物中分離出來，再利用聚醯胺對黃酮類的吸附性，從提取液將黃酮吸附後用洗脫劑洗脫達到分離純化的目的。

(3)大孔樹脂吸附法

大孔吸附樹脂是一種不含交換基質，具有大孔徑結構的有機高分子聚合物吸附劑，主要是以苯乙烯、乙二烯苯爲原料，在0.5%的明膠混懸液中，加入一定比例的致孔劑聚合而成。按其極性可分爲低極性和高極性大孔吸附樹脂。有機化合物依吸附力及分子量大小不同，在大孔樹脂上經溶劑洗脫分開。該樹脂具有吸附容量大、速度快、選擇性好、易溶解、機械強度高，再生處理簡便，有機溶劑用量少等優點，適用於從水溶液中分離低極性或非極性化合物[7]。

(4)其他：溫浸法、煎煮法、加鹼法、醇提法。

（二）類黃酮之分析方法有：(1) 分光光度法、(2) 色譜分析：高效液相層析法 (HPLC)及薄層層析法 (TLC)。

(1)分光光度法

利用黃酮類自身或與金屬離子Al^{3+}、Zr^{4+}、Ti^{4+}形成配合物在UV或可見光範圍有吸收性質9)。

(2)高效液相層析法 (HPLC)

高效液相層析法分離效果、準確性好，分析速度快及儀器自動化程度高，適合揮發性低、熱穩定性差、分子量大及離子型化合物的分析。黃酮類HPLC分析通常用反相C18柱色譜柱。由於黃酮分子中存在酚基，流動相中加入少量的酸可改善峰形[9]。

(3)薄層層析法 (TLC)

薄層層析法操作簡便快速，不需要貴重的儀器設備，雜質對色譜系統的干擾破壞小，分析成本低，但分析時間較長，結果重現性較差。方法是利用比移值Rf進行定性，利用斑點大小進行定量，但是操作繁多，誤差較大[9]。

四、中草藥類黃酮含量之簡介

丁等人以金銀花爲材料，利用溫浸法、煎煮法、加鹼法、醇沉法及超聲波法等五種方法進行金銀花中黃酮類物質提取，試驗結果表明，超聲波法的提取效果最好，金銀花中提取黃酮類化合物最佳條件爲：物料比爲1：30，40 %乙醇浸泡，萃取時間45分鐘，其黃酮浸出量達最高值爲16.91 %[1]。畢等人探討了從水芹中提取黃酮類化合物的最佳工藝條件，結果發現：在40倍於樣品重的80%的乙醇浸泡24小時，超聲波提取30分鐘。黃酮的浸出率可達94.6 %[15]。楊利用生薑爲材料，以聚醯氨樹脂柱提取，建立生薑黃酮的最佳提取條件，結果表明：以80%的乙醇水溶液爲溶劑，固液比爲1：2，在80 ℃下回流3小時，提取率最高[24]。毛等人採用水煎煮、

乙醇回流、超聲波及超臨界CO_2 等提取方法獲得白花蛇舌草浸膏，結果發現以80%乙醇回流提取，經聚醯氨樹脂柱分離提取白花蛇舌草中總黃酮，提取率最高[2]。吳等人分別對經不同方法處理兩批銀杏外種皮(皮Ⅰ、皮Ⅱ)進行提取，以比色法測得皮Ⅰ、皮Ⅱ 粗提物中的總黃酮分別爲22.7 %、29.7 %[10]。 劉等人以菊花爲材料，用比色法測定四種菊花葉中總黃酮的含量，結果發現四種菊花總黃酮含量分別爲：亳菊5.50%、滁菊6.43%、貢菊3.26%、杭白菊9.48%，可進一步開發與利用[20]。 張等人以分光光度法測定甘草中總黃酮含量，結果發現甘草中總黃酮含量爲4.2-4.4%，其中以烏拉爾甘草中總黃酮含量較高，具有開發利用價值[23]。孫等人以比色法測定山楂中總黃酮的含量，結果發現各地樣品中總黃酮含量在0.84-3.62%，與HPLC法測定的金絲桃甘含量基本呈正相關[12]。許等人比較數種蔬菜中類黃酮含量與蔬菜的整體抗氧化性分析，結果顯示以綠色及紫色甘薯葉(185.01及426.82 mg/g)、洋蔥褐色外皮(264.03 mg/g)的類黃酮含量較高。在抗氧化分析方面，綠色甘薯葉及洋蔥褐色外皮均高於80%， 因此經常攝食蔬果可預防疾病發生及具保健的功效[14]。江等人用高效液相色譜法測定了大豆中六種異黃酮成分，結果顯示大豆中一般均以葡萄糖基異黃酮，丙二醯葡萄糖基異黃酮的形式存在，極性異黃酮含量高，低極性異黃酮含量低[6]。殷等人採用HPLC技術快速檢測發酵大豆製品中異黃酮的含量，結果表明發酵大豆製品中異黃酮主要以甘元形式存在[13]。趙等人以桑枝爲材料，就桑枝的老、嫩、幼程度與總黃酮成分進行薄層層析分析與研究，結果發現老、嫩桑枝中有6個成分斑點，幼枝中僅有1 個黃酮成分斑點。進一步利用比色法進行桑枝中總黃酮的含量測定，結果老、嫩桑枝總黃酮含量相近，幼枝含量較低，因此傳統都選用一年生剛木質化的嫩枝入藥[18]。劉等人自農試所蒐集之薯蕷科薯蕷屬山藥物種種原約100個品種系，由其中篩選64個品種系進行山藥類黃酮含量測定。以64個品種系山藥塊莖中類黃酮含量測定做比較，探討不同山藥品種系類黃酮含量之差異，進行分析與比較，以供進一步栽培、加工與醫藥利用之參考。結果發現64種山藥塊莖類黃酮含量平均爲1.48mg/g。64種山藥品種系塊莖中以名間長紅品種之類黃酮含量最高爲18.69 mg/g，其次爲紫玉血薯及埔一品種，塊莖中類黃酮含量分別爲16.38 、9.03mg/g，類黃酮含量最小者爲南3品系之0.14mg/g，以及丈二3品系之0.15mg/g與紅柱薯品系之0.18 mg/g。64種山藥品種系塊莖中有21個品種類黃酮含量是在1mg/g 以上，其餘品種類黃酮含量大部分在0.9-0.2mg/g之間，有4個品種多醣體含量是在0.2mg/g以下。

五、結語

學者經過許多研究試驗方法，從各類植物中將類黃酮化合物等有效成分提取分離出來，進一步建立較靈敏、方便、準確檢測植物中類黃酮含量的測定方法，將含有有效成分之植物以供最大開發利用價值。目前常用的類黃酮提取方法包括有超聲波提取法、聚醯氨樹脂柱分離法、大孔樹脂吸附法等，類黃酮分析方法有 分光光度法、色譜分析（高效液相層析法及薄層層析法）等。中草藥類黃酮具有很強的免疫活性，也具有顯著生理藥理活性，包括有抗癌防癌作用；抗炎、抗過敏作用；抗菌、抗病毒作用及抗氧化及清除自由基作用等。可進一步爲開發保健食品奠定基礎。

六、參考文獻

1. 丁利君、吳振輝、蔡刨海、陳歡玲。2002。金銀花中黃酮類物質最佳提取工藝的研究。食品科學 23(2)：62-65。

2. 毛杏飛、羅佳波。白花蛇舌草中總黃酮提取分離工藝的研究。2002。中藥材 25(7) ：499-500

3. 王俐婷、宋賢一、張珍田。1999。基隆山藥塊莖多酚氧化酵素之純化及性質研究。中國農業化學會誌 37(1)：141-151。

4. 王俐婷、張珍田、宋賢一。1999。基隆山藥塊莖多酚氧化酵素之動力學機制研究。中國農業化學會誌 37(4)：455-461。5. 白鳳梅、蔡同一。1999。類黃酮生物活性及其機理的研究進展。食品科學 20(8)：11-13。

6. 江和源、呂飛杰、邰建祥、陳惠茹。2000。高效液相色譜法測定大豆中異黃酮的含量。食品科學 21(4)：56-58。

7. 米靖宇、宋純清。2001。大孔吸附樹脂在中草藥研究中的應用進展。中成藥 23(12)：914-917。

8. 朱汎琪、王俐婷、宋賢一、張珍田。1998。基隆山藥塊莖採收後之生化學研究。中國農業化學會誌 36：547-554。

9. 李廣、王清剛、王義明、羅國安。2001。黃酮類化合物的定量色譜分析。食品科學 22(2)：57-61。

10. 吳紅菱、龔堅、劉先林、姚維。1997。測定銀杏外種皮粗提物中的總黃酮。中草藥 28(9)：539-540。

11. 施益民、呂峰洲。1987。自由基與各種疾病。當代醫學 16：399-407。

12. 孫立立、謝鴻霞、孫敬勇、楊壽斌、于文強。2001。比色法測定山楂中總黃酮的含量。中成藥 23(10)：748-750。

13. 殷麗君、李里特、李再貴。2002。採用HPLC技術快速檢測發酵大豆製品中異黃酮的含量。食品科學 23 (2)：100-103。

14. 許夏芬、張肇麟、朱燕華。1998。數種蔬菜中類黃酮含量及抗氧化性分析。臺灣農業化學與食品科學 38(5)：377-387。

15. 畢麗君、李慧。1999。水芹中總黃酮類化合物最佳提取工藝的研究。食品科學 20(12)：35-37。

16. 喬俊纏、陳理、劉濤、管豔豔。1998。線葉菊總黃酮含量測定。中草藥 29(7)：453-454。

17. 趙文婉、張珍田、周淑姿。2002。淺談植物類化學物質對抗自由基之機制。食品工業月刊 34(2)：49-59。

18. 趙桂華、馬連珍、劉和善、賈元印。2001。對桑枝的老嫩程度與黃酮含量關係的試驗研究。基層中藥雜誌 15(2)：22-23。

19. 趙兵、王玉春、歐陽藩、伍志春。1999。超聲波在植物提取中的應用。中草藥 30(9)：附1-3。

20. 劉金旗、王蘭、劉勁松、吳德林、王舉濤。2002。菊花葉黃酮類化合物的實驗分析。中國中醫藥科技 9(4)：226-227。

21. 劉增堂、黃瑞泉。1978。Dioscoreaceae 薯蕷科，Flora of Taiwan pp.100-109。台灣植物誌編輯委員會。台北市。

22. 劉新裕、張同吳、林義恭、陳淑芬、王昭月、朱戩良、王順成。1999。山藥之品種特性、生產潛力、物化性質與抗氧化研究。中華農業研究 48：1-22。

23. 張雪輝、趙元芬、陳建民。2001。甘草中總黃酮的含量測定。中國中藥雜誌 26(11)：746-748。

24. 楊洋。2002。生薑黃酮的提取及其抗氧化活性的研究。食品科學 23(4)：45-50。